



HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EMPLEADAS PARA CONTROLAR EL  
HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD SIGATOKA  
NEGRA EN PLÁTANO Y BANANO



HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EMPLEADAS PARA CONTROLAR EL  
HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD SIGATOKA  
NEGRA EN PLÁTANO Y BANANO

JUANA DALIDES MENA GARCÍA  
C.C. 54259860

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE  
ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA AGRARIA  
TURBO, ANTIOQUIA OCTUBRE 2014

HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EMPLEADAS PARA CONTROLAR EL  
HONGO (*Mycosphaerella fijiensis*) CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD SIGATOKA  
NEGRA EN PLÁTANO Y BANANO

JUANA DALIDES MENA GARCÍA  
C.C. 54259860

Trabajo de grado, presentado como  
Requisito parcial para optar al título de Especialista en Biotecnología Agrícola.

Asesora:  
DIANA ANGELICA CARVAJAL BERNAL  
Bióloga, M.Sc. Biotecnología

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE  
ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA AGRARIA  
2014

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

Firma del Presidente del jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

Turbo, Antioquia, septiembre 2014

## ADVERTENCIA

“La Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente de La Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, el asesor del trabajo de grado y el jurado calificador, no son responsables de las ideas expuestas por el Autor”.

(Artículo 46, Acuerdo 006 de mayo 29 de 1979, Consejo Directivo).

“La Autora Juana Dalides Mena García, autoriza a La Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, la reproducción total o parcial de este documento, con la debida cita de reconocimiento y cede a la Universidad, los derechos patrimoniales con fines de investigación, docencia e instituciones, consagrado en el Artículo 72 de La Ley 23 de 1982 y las normas que lo instituyan o modifiquen”.

---

JUANA DALIDES MENA GARCIA

C.C. 54259860 de Quibdó

Autora

## RESUMEN

La enfermedad denominada Sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, afecta gran parte de la plantación de plátano y banano en Colombia; la zona bananera de Urabá (Apartadó – Antioquia) ha sido uno de los contextos agrícolas que más la ha padecido. El nuevo avance tecnológico incorporado en la producción agrícola en particular la biotecnología permite establecer causas, efectos, consecuencias y, controles de la enfermedad. Las diversas herramientas biotecnológicas empleadas en este campo de las ciencias agrícolas han permitido a lo largo de sus avances y prácticas rigurosas el mejoramiento de las especies y control de la enfermedad. Conocer cuáles son las herramientas biotecnológicas aplicables en el cultivo de (plátano y banano) permitirá evaluar y establecer procesos preventivos y de control mejorando así, la producción y calidad de la fruta.

## ABSTRACT

The disease called black Sigatoka, caused by the fungus *Mycosphaerella fijiensis*, affects much of the plantation of plantains and bananas in Colombia; the banana region of Urabá (Apartadó - Antioquia) has been one of the agricultural contexts that suffered it more. The new technological advance incorporated into agricultural production in particular biotechnology allows to establish causes, effects, consequences, and control of disease. Various biotechnological tools employed in the field of agricultural sciences have allowed along its advances and rigorous practices improvement of species and disease control. Know what are the applicable biotech tools in farming (plantains and bananas) will allow to evaluate and establish preventive and control, enhancing production and fruit quality processes.



## TABLA DE CONTENIDO

Introducción	13
Capítulo I	15
Generalidades	15
1. Descripción Geografía	15
2. Cultivo del banano y el plátano: Generalidades del banano y el plátano ( <i>Musa sp</i> )	15
3. <i>Mycosphaerella Fijensis</i>	17
3.1. Características morfológicas del hongo <i>Mycosphaerella fijensis</i>	20
3.2. Estudios citológicos del hongo <i>Mycosphaerella fijensis</i>	21
4. Síntomas de la enfermedad causada por el hongo <i>Mycosphaerella fijensis</i>	22
5. Medidas de control de la enfermedad	26
5.1. Control cultural	26
5.2. Control químico	27
5.3. Control biológico	30
6. Resistencia vegetal	30
6.1. Interacción planta patógeno	30
6.2. Resistencia basal inducida por MAMPs, DAMPs, o PAMPs	31
6.3. Resistencia sistemática	32
6.4. Interacción <i>Musa sp</i> – <i>Mycosphaerella fijensis</i>	32
7. Fito Mejoramiento en Plátano y Banano	38
Capítulo II	41
La Biotecnología	41
1.1. Biotecnología tradicional	43
1.2. Biotecnología clásica	43
1.3. Biotecnología moderna	44
1.3.1. Marcadores moleculares	45
2. Herramientas biotecnológicas empleadas en plátano y banano para	

controlar la Sigatoka Negra ( <i>Mycosphaerella fijiensis</i> )	46
2.1. Técnicas de propagación	46
2.2. Micro-propagación por organogénesis	47
2.3. Técnica de propagación <i>in vitro</i>	48
2.4. Embriogénesis somática	49
2.5. Cultivo de células y tejidos vegetales	50
2.6. Variación somaclonal	51
2.7. Transformación genética	52
2.7.1. Transformación genética vía <i>Agrobacterium sp</i>	52
2.8. Plantas transgénicas o modificadas genéticamente	53
2.9. Ampliación de fragmentos de ADN por reacción en cadena de polimerasa (PCR)	54
2.10. Trabajos realizados para la búsqueda de herramientas biotecnológicas	
En plátano y banano	54
Conclusiones	60
Recomendaciones	61
Referencia Bibliográfica	62

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pg.
Tabla 1. Características climatológicas de la zona de Urabá	15
Tabla 2. Origen y números de aislamientos de <i>Mycoaphaerella sp</i> Evaluados en banano o plátano establecidos en diferentes regiones de Colombia	19
Tabla 3. Variedades de banano de referencia para evaluar su resistencia frente al hongo <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	33
Tabla 4. Colección de aislamientos Colombianos de <i>Mycosphaerella fijiensis- morelet</i> de diferente virulencia y origen	35
Tabla 5. Reacción de 19 genotipos de <i>Musa spp</i> frente a 5 aislamientos <i>M. fijiensis morelet</i> de diferente virulencia y origen	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pg
Figura 1: Cultivo de plátano afectado por la sigatoka negra	22
Figura 2: Planta con racimo afectada por la Sigatoka negra	22
Figura 3: Cultivo de <i>musa</i> con presencia del hongo <i>M. fijiensis</i>	23
Figura 4. Etapa 1 observación de manchas cafés pequeñas	25
Figura 5. Etapa 2 manchas elongadas	25
Figura 6. Etapa 5 formaciones de aureola amarilla	25
Figura 7. Etapa 6 amarillo negro bien definido	25
Figura 8. Preparación de mezcla fungicida para el control de la Sigatoka Negra	29
Figura 9. Aplicación terrestre de control químico.	29

## INTRODUCCIÓN

El género *musa* de plátano y banano en Colombia, se cultiva en un área de 48.325 ha en banano (Augura, 2013) lo cual representa Us\$803.3 millones de dólares; en plátano hay una existencia de 330.000 ha, (ICA, 2013) representando Us\$53.4 millones de dólares.

La enfermedad conocida como la Sigatoka negra es causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, sin medidas de control la Sigatoka Negra puede reducir hasta en un 50 % el peso del racimo y causar pérdidas del 100 % de la producción debido al deterioro en la calidad.

Esta enfermedad fue identificada en 1963 en las islas Fiji del Pacífico Sur (Augura, 2011). En Colombia el hongo *Mycosphaerella fijiensis* se registró por primera vez en 1981 en la zona bananera de Urabá (Apartadó – Antioquia) de donde se diseminó al resto del país; este hongo ataca y, en casos extremos, causa la pérdida de las hojas lo que afecta la calidad de la fruta, la producción, el rendimiento y aumenta los costos del cultivo por constantes aplicaciones de fungicida donde se gastan 20 millones de dólares anuales para controlar la enfermedad sigatoka negra, actividad que contamina la fruta, el medio ambiente y los trabajadores (Arango, 2003).

En Colombia el banano constituye el tercer producto de exportación después del café y las flores. La producción nacional en banano y plátano es de millones de toneladas anuales distribuido de la siguiente manera: 96.1 millones de caja /año en banano y 4.8 millones de caja/año en plátano (Augura, 2013). En la región de Urabá, la

actividad económica gira en torno al banano que cuenta con 35.425ha y en Santa Marta con 12.900ha (Augura 2013).

Dado que el banano y el plátano en Colombia vienen presentando poca competitividad en los mercados internacionales por la disminución de producción por hectárea, deterioro de la fruta por la Sigatoka negra como es el número de hojas de la planta, el largo y ancho de la fruta al momento de cosechar y la disminución del área sembrada. Es de gran importancia conocer nuevas alternativas biotecnológicas que aplicadas a estos cultivos de banano y plátano puedan mejorar la producción y calidad de la fruta; restableciéndose así, el cultivo en la región de Urabá y del país. Igualmente es necesario conocer cuáles serían las posibles herramientas biotecnológicas a aplicar en estos cultivos para la prevención y control de la enfermedad Sigatoka negra.

Este trabajo de investigación monográfico se justifica porque permite conocer los problemas fitosanitarios del banano y del plátano, cultivos que vienen experimentando reducida competitividad en los mercados por descenso en la producción por hectárea y el deterioro de la fruta por la enfermedad de la sigatoka negra, entre otros. El área sembrada de cultivo de plátano y banano ha disminuido dadas las exigencias del mercado internacional, como es el número de hojas al momento de la cosecha, el largo y ancho del fruto, entre otros.

Otras consideraciones de gran importancia que permitirán alcanzarse a través de la realización de esta monografía es el de conocer las técnicas y/o herramientas biotecnológicas empleadas para controlar el hongo *M.fijiensis*; como también, describir y analizar los resultados de las herramientas biotecnológicas empleadas para controlar el hongo *Mycosphaerella fijiensis* causante de la Sigatoka negra en plátano y banano.

## CAPITULO I

### GENERALIDADES

#### 1. Descripción geográfica:

La región de Urabá está ubicada en el noroeste del departamento de Antioquia. Algunos de los municipios que hacen parte de ella como (Chigorodó, Carepa, Apartado y Turbo). Presenta las siguientes características climatológicas: Bosque húmedo tropical y bosque húmedo pluvial montano (bh-T) y (bmh-pM). Ver tabla 1.

Tabla 1. Características climatológicas de la zona de Urabá

Ubicación geográfica	Grados
Latitud norte	7° 40´ 00" -8° 05´ 50"
longitud occidente	2° 37´ 29" - 2° 37´ 53"
precipitación	2000 - 4000 mm
Temperatura promedio	28°C
Nivel del mar	27 msnm

Fuente: (Medina y Díaz, 2010; Vázquez, et al, 2010).

#### 2. El cultivo del Banano y el Plátano: Generalidades (*Musa spp*).

Las partes importantes de las plantas de plátano y banano son: el estema radicular, el cormo con los hijuelos, el pseudo-tallo con el sistema foliar y la inflorescencia. Son plantas herbácea de 3,5 a 7,5mts de altura; las hojas se desarrollan en forma espiral y tienen de 2 a 4mts de largo y 50cm de ancho, peciolo de 1mt o más; limbo alargado elíptico; el tallo es un rizoma verde, las flores son amarillas, desiguales con 6

estambres, siendo uno estéril, gineceo con 3 pistilos y conforman una inflorescencia. Su fruto es alargado y en su crecimiento según el peso, hace que el pedúnculo se doble (INFOAGRO, s/f). Estas plantas: plátano y banano se desarrollan en regiones tropicales y subtropicales.

A nivel mundial el área de cultivo de banano es de 4.923.584ha y 5.358.917ha de plátano (<http://faostat.fao.org>, consultada el 20 de Julio de 2011) (Citado en Rodríguez, 2011). En Colombia en el año 2013 se cultivaron 48.325 hectáreas de banano para exportación (Augura, 2013) de plátano se cultivaron 330.000 hectáreas para exportación (Augura, 2013). Colombia ocupa el Tercer lugar a nivel mundial en cuanto a exportación de banano y el primero en la producción del plátano de exportación; lo que refleja la importancia de estos cultivos en la economía y la alimentación (<http://faostat.fao.org>, consultada el 20 de Julio de 2011) (Citado en Rodríguez, 2011).

Considerando la alta producción de cultivos de plátano y banano a nivel mundial y los constantes problemas que han venido presentando estas especies, es necesario para que exista una buena rentabilidad en cuanto a la producción y exportación de la fruta establecer controles fitosanitarios. En Colombia por ejemplo llevar a cabo el manejo y control de la enfermedad Sigatoka negra equivale gastar entre Us\$700-900 ha/año, lo que representa el 46% del valor global de agroquímicos y cerca del 14% del costo en la producción de la fruta (Salazar, Patiño y Bustamante, 2006).



La poca cantidad de productos químicos comercializados para controlar la enfermedad Sigatoka negra, hace que sea costoso y estos a su vez incrementa alrededor del 30-40% de los costos de producción (Perea, 2003).

### 3. *Mycosphaerella fijiensis*

Este hongo fue identificado en 1963 en la Isla Fiji en el pacífico sur, aunque se cree se propagó desde 1972 en Taiwán (Rodríguez, 2011). En 40 años el patógeno ha logrado extenderse a la mayoría de regiones productoras de plátano y banano en todo el mundo, inclusive adaptarse a climas fríos. El hongo tiene un desarrollo ideal a temperatura de 25 a 28 °c, la incubación dura 17 días para Banano y 29 días para Plátano (Merchán, 1998).

Este hongo pertenece a la clase *Ascomycetae*, es haploide, heniotrófico y bipolar, con sistema de apareamiento heterotálico, es la forma sexual. En cambio *Pseudocercospora fijiensis* es la forma asexual, parte del ciclo de vida del hongo que se relaciona directamente con la sigatoka (Rodríguez, 2011).

La forma sexual la forman los peritecios, espermagonios y ascosporas, los cuales son encontrados en la etapa inicial de los síntomas, estado 2 y 3. Los espermagonios y ascosporas son la fuente principal de inóculo se pueden encontrar concentraciones muy altas en las plantas. La liberación de las ascosporas pueden ocurrir 49 días después de la infección en el banano y 64 días después de la infección en plátano (Merchán, 1998).

Las ascosporas se encuentran tanto en el haz como en el envés de la hoja, la cual penetra por los estomas. Al presentarse las estrías alrededor de las 2 o 3 semanas se inicia la infección con ascosporas y pueden permanecer 21 semana después de la

muerte de la hoja e infectar las hojas más jóvenes de la planta (Rodríguez, 2011; Merchán, 1998).

El estado asexual o vegetativo, está compuesto por conidios o conidióforos los cuales forman estrías que aparecen como los primeros síntomas de la enfermedad. La producción de conidióforos es mayor en los estadios 3 o 4 y cuando hay alta pluviosidad. Los primeros conidióforos aparecen sobre lesiones estriadas a los 28 días en el banano y a los 34 días en el plátano y se presentan por los estomas de manera individual o grupal (Merchán, 1998). Un conidióforo forma cuatro conidios maduros, observándose en el estado 2 de la enfermedad (Rodríguez, 2011).

El hongo *Mycosphaerella fijiensis*, se disemina por 3 vías: 1. Material vegetal infectado (hojas enfermas, retoños infectados); 2. Dispersión de ascosporas (durante la reproducción sexual); 3. Dispersión de conidias (producida en la reproducción asexual (Carlier, 2004). Las conidias se propagan a cortas distancias en la misma planta o en plantas vecinas; las ascosporas pueden recorrer con el viento cientos de kilómetros.

La estructura de *M. fijiensis*, fue examinada a escala mundial empleando marcadores moleculares (Carlier, 2004). Este estudio permitió observar que un alto nivel de diversidad genética como (*M. fijiensis*, *M. fijiensis* var. *difformis* y *M. musicola*) se ha mantenido tanto a nivel de cultivo como de planta. La estructura de la población del hongo refleja la historia de la dispersión del *M. fijiensis*, confirmando que el sudeste de Asia es donde se originó la enfermedad y en los países de América latina y el Caribe

(tales como: Honduras, Costa Rica y Colombia), se presentó una posterior diversificación. Dentro del mismo estudio se realizan las estimaciones de la distancias de dispersión de las ascosporas empleándose enfoques directos e indirectos. Se observó que la distancia de dispersión de las ascosporas en ambos métodos fue cercano a los 30m por debajo de los 300km (Carlier, 2004); Lo que indica que plantaciones que estén por encima de los 30m de distancia no pueden ser infectadas por las ascosporas, cuando la población se ha aislado por un periodo de 4 semanas; La dispersión ocurre principalmente entre plantas vecinas. Ver tabla 2.

Tabla 2. Origen y números de aislamientos de *Mycosphaerella spp* evaluados en cultivo de bananos y plátanos establecidos en diferentes Regiones de Colombia.

Lugar de recolección	Numero de aislamientos	Plantas	Cultivar
Chocó (Quibdó, Tadó y Managrucito)	6	Plátano	Dominico
Magdalena (Santa Marta)	5	Banano	Gran Enano
Antioquia (Urabá antioqueño)	5	Banano	Gran Enano
Llanos Orientales	4	Plátano	Dominico
Tolima	1	Plátano	Hartón
Total	21		

Fuente: Perea y colaboradores (2003).

La investigación de Arango durante el 2003, sobre el diagnóstico y caracterización molecular del aislamiento del hongo *Mycosphaerella sp.* utilizando capas provenientes de diferentes plantaciones de banano y plátano del país (Colombia), con el objeto de estudiar el comportamiento del mismo en algunas regiones; permitió observar en estos aislamientos, polimorfismos del mismo origen geográfico como el de Urabá y El Chocó,

concluyendo que el hongo probablemente fue llevado del Urabá al Chocó en los residuos de cosecha como: las hojas y semillas. En cuanto a las cepas provenientes de los Llanos Orientales fueron muy diferentes a las anteriores, lo cual confirma la diversidad genética del patógeno y la diseminación de la enfermedad Sigatoka negra en Colombia.

### 3.1. *Características biológicas del hongo *Mycosphaerella fijiensis* en Sigatoka negra*

Presenta conidióforos y conidios; los conidióforos se presentan en la etapa (2-3) de la enfermedad; con las primeras rayas en la parte inferior de la hoja, emergen individualmente o en pequeños grupos (2-6) sin esporodoquios y estromas; son rectos o geniculados con un color pálido o ligeramente marrón con (0-5) septos a veces ramificados, con cicatrices en la espora ligeramente engrosados. Los conidios son cilíndricos, ovalados, rectos o curvos de hialinos a oliváceos, muy pálidos, con numerosos septos de (1-10) con hilo basal distinto entre 30 (Pérez, 2006; Rodríguez 2011). Estas características morfológicas se tienen en cuenta para identificar el hongo, al igual que la metodología de amplificación de fragmentos de ADN por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Godoy, Polanco y Venegas, 2007), son indicadores que identifican y caracterizan el hongo.

El hongo es haploide y se reproduce sexual y asexualmente (Perea y colaboradores, 2005), causa la enfermedad de la Sigatoka negra en las Musáceas, presentando epidemia en algunos lugares donde se produce. Los síntomas de la enfermedad son variables de acuerdo a la variedad cultivada y el medio ambiente en que se desarrolla. Lo complicado de aislar el hongo y producir monospóricos puros

hace que el diagnóstico preciso de la enfermedad en algunos casos sea complicado (Godoy, Polanco y Venegas, 2007).

### 3.2. *Estudios citológicos del hongo *Mycosphaerella fijiensis*.*

Los estudios citológicos afirman que el hongo *Mycosphaerella fijiensis* es un parásito biotrófico en los primeros estadios colonizando espacios intercelulares, después de la introducción del hongo en las hojas, las hifas crecen entre las células por lo cual se vuelven necróticas. Lepoivre et al, (2002) (Citado en Rodríguez y Cayon, 2010).

El hongo es clasificado como hemibiótrofo, tiene tubos germinativos; penetra por las estomas e invade los espacios intercelulares entre las células del mesófilo antes de generar las primeras alteraciones citológicas de tejido (Rodríguez y Cayon, 2010).

Dado que la enfermedad sigatoka negra ataca la hoja en la cual se producen procesos fisiológicos tan importantes como la fotosíntesis, transpiración, intercambio de gases, respiración, etc., cuando el hongo se presenta en las hojas, se ven afectados estos procesos debido a que al aumentar la severidad de la enfermedad la tasa de transpiración disminuye al igual que la fotosíntesis (Rodríguez y Cayon, 2010) y causando la desorganización del protoplasma y la muerte celular (Kramer y Duke, 1989) (Citados en Rodríguez y Cayon, 2010).

Los cultivos de plátano y banano son atacados por un sinnúmero de virus, hongos y bacterias; otros factores que ayudan a la diseminación de la enfermedad Sigatoka negra son la poca aplicación de los controles culturales y los altos costos de los productos químicos que no han dado los resultados esperados por el

desconocimiento del hongo, la variedad y por la genética del patógeno al igual que el periodo de vida del cultivo (Pineda y colaboradores, 2002).

#### 4. Síntomas de la enfermedad causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*.

La Sigatoka Negra es una enfermedad que se relaciona con 3 patógenos: *Mycosphaerella musicola* que causa la Sigatoka amarilla; *Mycosphaerella fijiensis*, que causa la raya negra y *Mycosphaerella fijiensis* var *difforme*, causante de la Sigatoka negra. Los dos últimos patógenos son considerados como uno por provocar síntomas similares. El hongo *Mycosphaerella eumusae*, que origina la mancha foliar del banano (Rodríguez, 2011). Que predomine la especie *M. fijiensis* o *M. musicola* depende de la temperatura. La Sigatoka amarilla es observada normalmente a temperaturas bajas. Algunos investigadores encontraron que el crecimiento del tubo germinativo de las conidias a los 17°C es más rápido; a diferencia de la Sigatoka negra, donde el crecimiento del conidio fue más rápido a temperaturas más altas (Marín, et al, 2003).



Figura 1: Cultivo de plátano afectado por la Sigatoka negra



Figura 2: Planta con racimo afectada por la Sigatoka negra

Los primeros síntomas de la enfermedad Sigatoka negra fueron observados en centro América en Honduras en 1972. En Colombia la enfermedad se presentó por

primera vez en 1981 en la zona bananera de Urabá (Apartadó-Antioquia), extendiéndose desde allí a todo el país (Arango, et al, 2003). La Sigatoka negra y amarilla afecta el 30% del total de las 450000 ha sembrada en plátano y banano.

La Sigatoka negra a diferencia de la amarilla se ha diseminando en un alto porcentaje por las regiones productoras de banano y plátano ocasionando baja producción, frutas pequeñas, baja calidad y madurez prematura en las frutas destinadas a la exportación.

En la Sigatoka el ciclo asexual (conidio) y ciclo sexual (ascospora), intervienen en la dispersión. Las conidias forman estrías que aparecen en el primer estadio de manchas; son abundantes en épocas de alta humedad y cuando hay películas de agua sobre las hojas (Marín, 2003; Rodríguez, 2011); infecta a corta distancia entre las hojas de la misma planta, de madre a hijos y plantas cercanas. Las ascosporas infectan principalmente a distancias más largas.



Figura 3: Cultivo de *musa* con presencia del hongo *M. fijiensis*

La enfermedad comienza con líneas muy pequeñas color carmelita rojizo en el envés de la hoja, al desarrollarse las líneas se tornan grandes, oscuras y llegan al haz.

Posteriormente, la zona oscura de halo amarillo que cubre los tejidos muertos se unen ocasionando la muerte de la hoja (Crane, Belardi y Maguire, sin fecha). En las hojas enfermas las ascosporas viven 20 semanas y al caer al suelo (3-8) semanas (Perea y colaboradores, 2005).

Las fases de desarrollo de los síntomas de la enfermedad son seis. (Marín, 2003; Rodríguez, 2011).

Fase 1: Manchas cafés pequeñas de 0.25mm de diámetro, aparecen en el envés de la hoja.

Fase 2: las manchas se vuelven raya de 1 mm de ancho por 2 mm de largo.

Fase 3: los rayos se vuelven más largos, oscuros en el envés y visibles en la superficie superior como rayas amarillas.

Fase 4: sobre la superficie superior, las rayas cafés oscuras aparecen rodeadas por una zona amarillenta pálida, se observa café en el envés y negro en el haz.

Fase 5: los centros negros de las manchas comienzan a destruirse mientras el tejido que los rodea forma una aureola amarilla con el centro semihundido.

Fase 6: los centros de las manchas se secan formando una mancha gris rodeada por un anillo negro bien definido y un halo amarillo brillante (Merchán 1998; Rodríguez, 2011).



### Fases de la enfermedad Sigatoka negra

**Figura 4.**



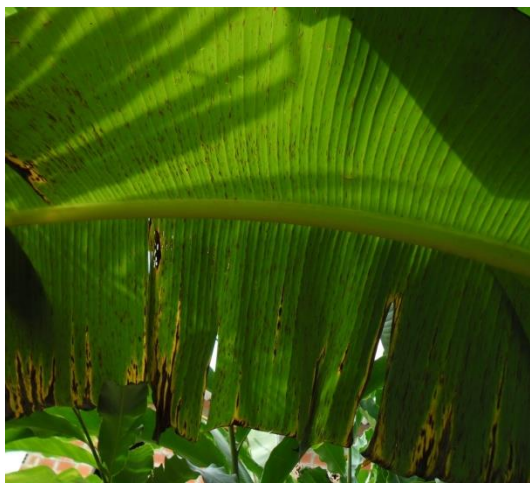
Etapa 1: Manchas cafés

**Figura 5.**



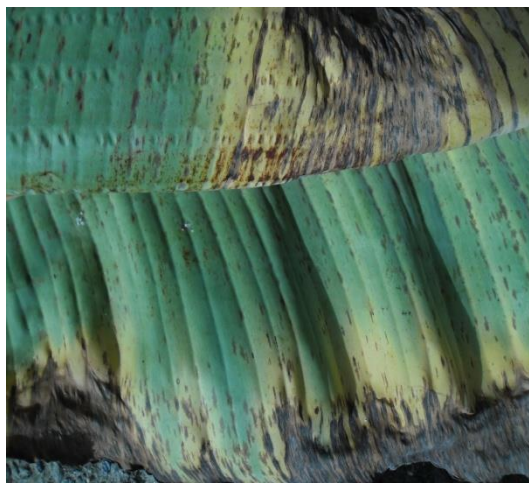
Etapa 2: Manchas elongadas

**Figura 6**



Etapa 5 formación de aureola amarilla

**Figura 7**



Etapa 6 anillo negro bien definido

El tiempo que transcurre entre la infección y la aparición de los síntomas varía según las condiciones ambientales y la susceptibilidad de la planta (Marín, 2003).

### *5. Medidas de control de la enfermedad*

El ICA en el año 2007 en sus resultados del proyecto de investigación sobre el manejo integrado de la Sigatoka negra en el plátano y banano para aumentar la calidad y la producción en América latina y el Caribe, concluye que se debe estudiar con mucho más rigor la biología, epidemiología y manejo del hongo (Arango, et al 2003).

En la zona de Urabá, los controles que se realizan para contrarrestar y o controlar la enfermedad Sigatoka negra en plátano y banano, se basan en el reconocimiento prematuro de los síntomas realizando prácticas culturales como: deshoje, despunte y cirugía. (Medina y Díaz, 2010). Otras actividades realizadas son control de maleza, canales de drenaje, ciclos de nutrición, control químico, terrestre y aéreo y en banano se emplean plantas mejoradas por meristemos.

#### *5.1. Control cultural*

Las labores que se llevan a cabo para el control de la enfermedad Sigatoka negra ayudan a la reducción de los niveles del inóculo, al disminuir las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad (Marín, 2003). Estas prácticas de saneamiento y depuración contrarrestan los niveles de infección. En el caso de la Sigatoka se emplea la cirugía que es una práctica que consiste en extraer el tejido esporulado de la hoja cuando alcanza la madurez; esta práctica se mejora cuando al tejido extraído de la hoja que se encuentra en el suelo se le aplica urea y otros procedimientos para acelerar la descomposición del tejido y reducir la densidad del inóculo (Marín, 2003).

Otra práctica cultural es el deshoje: que consiste en eliminar la hoja que se encuentra afectada por el hongo y que fisiológicamente no cumple con ninguna función; el deshoje es una alternativa de manejo en la zona de Urabá, lo que coincide con lo realizado en Tully (Australia), donde se logró erradicar la enfermedad por medio de esta práctica (Ploetz, 2004).

Los sistemas de drenaje eficientes ayudan a eliminar el agua rápidamente, lo que reduce la humedad relativa. Todas estas prácticas deben ir acompañadas de un buen control de maleza y buena fertilización (Marín, 2003). Además, se deben emplear medidas cuarentenarias para evitar la dispersión de ascospora y material vegetal infectado (Carlier, 2004).

## 5.2. Control químico

En Banano y Plátano el empleo de control químico como alternativa para controlar la enfermedad Sigatoka negra es eficaz, pero hay que resaltar su alto costo para los pequeños productores. América Latina y América Central invierten alrededor de 350 millones de dólares en control del hongo y de dicho valor de invertido, Colombia Gasta alrededor de 30 millones de dólares año Realizando en promedio de 20 a 30 ciclos de aplicación de controles químicos (Peláez, et al, 2006). Debido a la resistencia que ha desarrollado el hongo *M. fijiensis*, el grupo de químicos para su control cada vez es más reducido y en el caso de fruta para exportación hay restricciones para su uso (Ploetz, 2004). Además del deterioro ambiental y de la salud humana por el empleo indiscriminado de productos químicos.

Para controlar la Sigatoka negra se alternan fungicidas protectante (Mancozeb o clorotalonil) y sistémicos (benzimidazoles, triazol, morfolina) y strobilurin (Qols), aplicados en aceite o en emulsión de agua. El aceite retrasa el desarrollo de la infección en las etapas iniciales y al combinarse con algunos productos sistémicos mejora la penetración del fungicida en la hoja (Marín, 2003). El fungicida protectante debe ser depositado en la superficie de la hoja antes de la infección donde actúa inhibiendo la germinación de las esporas y la penetración del patógeno en la hoja.

La efectividad de la aplicación del fungicida protector depende de que tanto cubra la parte inferior de la hoja porque es ahí donde empiezan la mayoría de las infecciones. (Marín, 2003).

Los fungicidas registrados para controlar la Sigatoka son: triazolez (propiconazoles), strobilurin (azoxistrobina y trifloxistrobina), Pyrimethanil (Anilinopyrimidine), espiroamina (spiroketamine), Acibenzolar-Smetilico (Marín, 2003). De acuerdo con varias investigaciones los fungicidas que más se han utilizado son los sistémicos por su forma de acción: Benzimidazol, Triazoles, Strobirulines, Morfolinas. (Peláez, et al 2006; Rodríguez, 2011; Cuellar, et al, 2011)

**Figura 8**

Preparación de mezcla fungicida, para  
El control de la Sigatoka Negra, Urabá

**Figura 9**

Aplicación terrestre de control químico  
Sigatoka Negra. Municipio de Chigorodó

Investigaciones realizadas por Peláez, et al en el 2006. Utilizaron el método de dilución en microplasto para medir la sensibilidad del hongo *M. fijiensis* a los fungicidas Propiconazol (Tilt 25 EC) Benomilo (Benlate) y Azoxistrobina (Bankit) utilizados en el cultivo del plátano y banano. El estudio demostró que el método de dilución en microplasto permite evaluar el crecimiento del hongo *M. fijiensis* además, los fungicidas Benomil, Propiconazol y Azoxistrobina empleados en los cultivos antes mencionados, tienen buena inhibición en el crecimiento del hongo dependiendo de la dosis adecuada del fungicida, lo que concuerda con otros estudios realizados; sin embargo, esta investigación no precisa el estado de la resistencia de las poblaciones del hongo *M. fijiensis* obtenido en las diferentes regiones del país, Colombia (Santa Marta, Tomate, Urabá, y otros).

### 5.3. Control Biológico

Generalmente el control biológico de la Sigatoka negra es complicado por la naturaleza poli-cíclica de la enfermedad, la presencia de plantas de todas las edades y la resistencia del hongo (Marín, et al, 2003). Sin embargo el interés en conservar el medio ambiente al igual que la resistencia del hongo a los controles químicos ha llevado a la búsqueda de otras alternativas de control biológico. Las bacterias son el principal mecanismo de control biológico empleado para controlar la Sigatoka negra; las bacterias con mejores resultados en el control de la enfermedad Sigatoka son de la especie *Bacillus sp*, que posee mayor potencial para colonizar la superficie foliar y formar estructuras de resistencia que ayudan a sobrevivir a condiciones ambientales adversas. También son de gran interés las enzimas Quitinaza y Gluconazas (Marín, 2003) porque debilitan la pared celular del hongo (Vásquez y colaboradores 2010).

## 6. RESISTENCIA VEGETAL

### 6.1. Interacción planta patógeno

La capacidad que tiene un patógeno para provocar enfermedad a una planta hospedera es medida de acuerdo a la respuesta de la planta. Si la infección llega a la planta desarrollándose la enfermedad, la planta es susceptible al patógeno; siendo la interacción compatible. Cuando las plantas son capaces de reducir la multiplicación o movimiento del patógeno del sitio inicial de la infección son resistentes y la interacción incompatible (Rodríguez, 2011).

La resistencia se produce por la interacción genética entre genes de resistencia de la planta y genes de avirulencia del patógeno. La falta de uno de estos dos genes en la planta o patógeno es determinante para que la interacción sea de resistencia o de susceptibilidad. Los genotipos de plátano son más resistentes que los de banano al poseer el genoma B (*Balbisiana* – Plátano) y genoma A (*Acuminata* – Bananos), (Belalcazar et al, 1991). Las plantas que poseen genoma B, hace que esta sea más resistente a la enfermedad; las plantas con genoma A, son más virulentas es decir, menos resistentes a la enfermedad.

Teniendo en cuenta la resistencia las plantas pueden clasificarse en varios niveles: altamente resistentes, parcialmente resistente, susceptible y muy susceptible dependiendo de la velocidad y extensión de la respuesta de defensa. Si todos los individuos de una especie de planta son resistentes a todos los individuos de una especie de patógeno, hay resistencia al hospedante. Ciertas variedades de plantas se caracterizan por dar respuestas rápidas de hipersensibilidad al reconocer al patógeno, lo cual evita la colonización del microorganismo y por ende el desarrollo de la enfermedad, estas plantas se conocen como inmunes. En los genotipos de plantas donde la enfermedad tiene bajo desarrollo hay resistencia parcial al compararlas con las plantas susceptibles.

## 6.2. Resistencia basal inducida por MAMPs, DAMPs o PAMPs

La resistencia basal puede ser inducida por los MAMPs, DAMPs, o PAMPs (Patrones Moleculares Asociados al Patógeno) son componentes indispensables de toda clase de patógeno. Los DAMPs, MAMPs y PAMPs son identificados por proteínas

receptoras que existen sobre la superficie de la membrana celular de la planta al producirse la estimulación de los receptores por los DAMPs, MAMPs y PAMPs se induce resistencia inmune basal activa. Los receptores también intervienen en el reconocimiento intracelular de moléculas avirulentas del patógeno donde actúan proteínas efectoras donde la respuesta es la muerte celular programada del patógeno (Rodríguez, 2011).

### 6.3. *Resistencia sistémica*

Al relacionarse microorganismos patogénicos y no patogénicos se activan diferentes mecanismos de defensa en diversas partes de las plantas distintas al lugar de reconocimiento los mecanismos de la defensa de la planta más conocidos son Resistencia sistémica adquirida (SAR) y la resistencia sistémica inducida (ISR). SAR puede ser activada por infección local, molecular o químicas, provocando una resistencia sistémica a largo plazo para futuros ataques del patógeno; la respuesta se relaciona con la actividad del gen (PR) y necesita la intervención del ácido salicílico (SA). ISR, se produce como resultado de la colonización de raíces por ciertas bacterias no patogénicas de la rizosfera, requiere del ácido jasmonico (JA) y del etileno en la ruta de señalización (Rodríguez, 2011).

### 6.4. *Interacción Musa Sp – Mycosphaerella fijiensis*

La susceptibilidad de los clones de plátanos y banano a la enfermedad Sigatoka negra varía ampliamente. El genoma *M Balbisiana* tiene cierta tolerancia en algunos cultivares de tipo ABB; pero a la vez induce alta cantidad de almidones en la fruta lo que baja la calidad de la fruta para su consumo fresco.



Teniendo en cuenta los parámetros que miden el nivel de la enfermedad y resistencia de los diferentes cultivares de *Musa*, se han clasificado en diversas categorías: Altamente resistente (HR) los síntomas de la enfermedad se presentan en etapas tempranas, no hay esporulación del hongo destacándose la Variedad *Yagambí km5* cuyo (genoma AAA) y Calcutta 4 con genoma (AA).

Parcialmente resistente (PR): la enfermedad se desarrolla en forma lenta y al momento de producir la fruta hay buena cantidad de hojas. Ejemplo: la variedad *Fougamou* con (genoma ABB).

Susceptible (s): la enfermedad se desarrolla rápidamente en la planta hay necrosamiento de hojas; pocas hojas funcionales al momento de la cosecha, dentro de estas se encuentra la variedad Bocadoillo, genoma (AA).

Muy susceptible (Vs): la planta muestra desarrollo rápido de la enfermedad y muy pocas hojas funcionales al momento de la cosecha, resaltan los clones *Cavendish* (variedad gran enano, William y Valery (Rodríguez, 2011). Observar tabla No 3

Tabla No 3: Variedades de banano de referencia para evaluar su resistencia frente al hongo *Mycosphaerella fijiensis*

Variedad	Nivel de resistencia	Identificación (ITC)
<i>Yogambi km5</i>	Altamente resistente	ITC 1123
<i>Calcutta 4</i>	Altamente resistente	ITC 0249
<i>Pisang Lili</i>	Parcialmente resistente	ITC 14000
<i>Pisang Ceylan</i>	Parcialmente resistente	ITC 1441
<i>Pisang Berlin</i>	Susceptible	ITC 0611
<i>Grande Naine</i>	Susceptible	ITC 1256

Fuente (Rodríguez, 2011).

La fundación Hondureña de investigación agrícola (FHIA) en colaboración con algunas instituciones internacionales como el Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo (IDRC), crearon variedades tetraploides de plátano y banano (llamadas FHIA) con diferentes grados de resistencia a la Sigatoka; aunque la fruta no es aceptada en los mercados internacionales por su sabor (Rodríguez, 2011).

La resistencia de *Musa sp* a *M.fijiensis*, se observa en el periodo de post infección por medio de la activación de mecanismos como: la producción de proteínas relacionadas con el patógeno y las fitoalexinas que ocasionan pequeños cambios en la estructura (Marín, et al, 2003).

Otras investigaciones llevadas a cabo por Moens, y colaboradores, (2002); encontraron al realizar la evaluación de la progenie de un cruzamiento entre Pisang

Berlín y *M. acuminata spp*, burmannicoides “calcutta 4” que el proceso de mejoramiento puede acelerarse si las características deseadas como la resistencia son detectadas en etapas tempranas

Leiva, (2006) en su investigación sobre mejoramiento genético tradicional y el empleo de técnicas biotecnológicas para la búsqueda de resistencia frente a los principales patógenos fúngicos de *Musa sp*, encontró que el cruzamiento genético mediante técnicas de hibridación es exitoso al igual que los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas por los centros de investigaciones FHIA e IITA.

La hibridación en IITA se realiza con la producción de híbridos tetraploides producidos por cruzamiento de genotipos triploides con diploides. Los triploides aptos fueron utilizados como parentales femeninos (Perea 1998) para originar nuevos triploides fértiles y los diploides actúan como parentales masculinos produciendo polen haploide normal. Los parentales diploides aportaron genes de resistencia a la Sigatoka negra, IITA, desarrolló híbridos resistentes por medio de la combinación de biotecnología vegetal (cruzamiento inter específico, manipulación de la poliploidia, cultivo *in vitro*), métodos convencionales de mejoramiento y selección en campo. Entre los híbridos resistentes a la Sigatoka negra en plátano están; TMpx584-4 oL x C4, TM p 548 – 9 oL x C4., TMpx582-4BT, entre otros (Leiva, 2006)

El centro Hondureño de investigación FHIA, emplea la resistencia de las especies silvestres de *Musa* (*Musa acuminata sp. Burmannica*, *Musa acuminata sp. Malassensis*) cultivares diploides *Pak* (AA), *pisan lilin* (AA), y algunos diploides como; *yangambi km5* (AAA), *saba* (ABB). Se destacan los híbridos FHIA 01, FHIA 02, FHIA 03, por su

resistencia a *M.fijiensis* y *Fusarium oxysporium* (Leiva, 2006; Perea, 1998). Observar tabla No 4 y tabla No 5

Tabla 4: Colección de aislamientos colombianos de *Mycosphaerella fijiensis* *morele* según su origen

**Tabla 1.** Colección de aislamientos colombianos de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet según su origen.

No.	Aislamiento	Departamento	Genotipo	No.	Aislamiento	Departamento	Genotipo	No.	Aislamiento	Departamento	Genotipo
1	MAS 1-1	Antioquia	Hartón	42	MCuS 2-1	Cauca	Hartón	84	MMV 3-1	Meta	Hartón
2	MAS 1-2	Antioquia	Hartón	43	MCuS 2-2	Cauca	Hartón	85	MMV 3-2	Meta	Hartón
3	MAS 1-3	Antioquia	Hartón	44	MCuS 3-1	Cauca	Hartón	86	MMV 4-1	Meta	Hartón
4	MAU 1-1	Antioquia	Cavendish	45	MCuS 3-2	Cauca	Hartón	87	MMV 4-2	Meta	Hartón
5	MAU 1-2	Antioquia	Cavendish	46	MCuS 4-1	Cauca	G. Michel	88	MMV 5-1	Meta	Topocho
6	MAU 1-3	Antioquia	Cavendish	47	MCuS 4-2	Cauca	G. Michel	89	MMV 5-2	Meta	Topocho
7	MAU 1-4	Antioquia	Cavendish	48	MCuS 5-1	Cauca	Sedita	90	MMV 6-1	Meta	G. Michel
8	MCP 1-1	Caldas	África	49	MCuS 5-2	Cauca	Sedita	91	MMV 6-2	Meta	G. Michel
9	MCP 1-2	Caldas	África	50	MCuS 6-1	Cauca	Hartón	92	MQA 1-1	Quindío	D. Hartón
10	MCP 1-3	Caldas	África	51	MCuS 6-2	Cauca	Hartón	93	MQA 1-2	Quindío	D. Hartón
11	MCP 2-1	Caldas	D. Hartón	53	MCuV 1-2	Cauca	G. Michel	94	MQA 1-3	Quindío	D. Hartón
12	MCP 2-2	Caldas	D. Hartón	54	MCuV 2-1	Cauca	Topocho	95	MQT 1-1	Quindío	FHIA 17
13	MCP 2-3	Caldas	D. Hartón	55	MCuV 2-2	Cauca	Topocho	96	MQT 1-2	Quindío	FHIA 17
14	MCP 2-4	Caldas	D. Hartón	56	MCuV 3-1	Cauca	Hartón	97	MQT 1-3	Quindío	FHIA 17
15	MCP 3-1	Caldas	FHIA 20	57	MCuV 3-2	Cauca	Hartón	98	MQM 1-1	Quindío	Hartón
16	MCP 3-2	Caldas	FHIA 20	58	MCoP 1-1	Córdoba	Hartón	99	MQM 1-2	Quindío	Hartón
17	MCP 3-3	Caldas	FHIA 20	59	MCoP 1-2	Córdoba	Hartón	100	MQM 1-3	Quindío	Hartón
18	MCP 4-1	Caldas	FHIA 21	60	MCoP 1-3	Córdoba	Hartón	101	MQM 2-1	Quindío	Guayabo
19	MCP 4-2	Caldas	FHIA 21	61	MCoP 2-1	Córdoba	Hartón	102	MQM 2-2	Quindío	Guayabo
20	MCP 4-3	Caldas	FHIA 21	62	MCoP 2-2	Córdoba	Hartón	103	MQM 2-3	Quindío	Guayabo
21	MCP 5-1	Caldas	FHIA 25	63	MCoP 2-3	Córdoba	Hartón	104	MQQ 1-1	Quindío	D. Hartón
22	MCP 5-2	Caldas	FHIA 25	64	MCoP 3-1	Córdoba	a	105	MQQ 1-2	Quindío	D. Hartón
23	MCP 5-3	Caldas	FHIA 25	65	MCoP 3-2	Córdoba	a	106	MQQ 1-3	Quindío	D. Hartón
24	MCqF 1-1	Caquetá	G. Michel	66	MCoP 3-3	Córdoba	a	107	MVC 1-1	Valle	a
25	MCqF 1-2	Caquetá	G. Michel	67	MCoP 4-1	Córdoba	Topocho	108	MVC 1-2	Valle	A
26	MCqF 1-3	Caquetá	G. Michel	68	MCoP 4-2	Córdoba	Topocho	109	MVC 2-1	Valle	A
27	MCqF 2-1	Caquetá	Guineo	69	MCoP 4-3	Córdoba	Topocho	110	MVC 2-2	Valle	A
28	MCqF 2-2	Caquetá	Guineo	70	MHP 1-1	Huila	H. Blanco	111	MVC 3-1	Valle	A
29	MCqF 2-3	Caquetá	Guineo	71	MHP 1-2	Huila	H. Blanco	112	MVC 3-2	Valle	A
30	MCqF 3-1	Caquetá	Maqueño	72	MHP 2-1	Huila	G. Michel	113	MVP 1-1	Valle	D. Hartón
31	MCqF 3-2	Caquetá	Maqueño	73	MHP 3-1	Huila	Guineo	114	MVP 1-2	Valle	D. Hartón
32	MCqF 3-3	Caquetá	Maqueño	74	MHP 3-2	Huila	Guineo	116	MVP 2-1	Valle	África
33	MCqF 4-1	Caquetá	Guayabo	75	MMS 1-1	Magdalena	Cavendish	117	MVP 2-2	Valle	África
34	MCqF 4-2	Caquetá	Guayabo	76	MMS 1-2	Magdalena	Cavendish	118	MVP 3-1	Valle	Topocho
35	MCqF 4-3	Caquetá	Guayabo	77	MMS 1-3	Magdalena	Cavendish	119	MVP 3-2	Valle	Topocho
36	MCuP 1-1	Cauca	a	78	MMP 1-1	Meta	Topocho	120	MVP 4-1	Valle	G. Michel
37	MCuP 1-2	Cauca	a	79	MMP 1-2	Meta	Topocho	121	MVP 4-2	Valle	G. Michel
38	MCuP 2-1	Cauca	a	80	MMV 1-1	Meta	G. Michel	122	MVR 1-1	Valle	Sedita
39	MCuP 2-2	Cauca	a	81	MMV 1-2	Meta	G. Michel	123	MVR 1-2	Valle	Sedita
40	MCuS 1-1	Cauca	D. 500	82	MMV 2-1	Meta	G. Michel	124	MVV 1-1	Valle	a
41	MCuS 1-2	Cauca	D. 500	83	MMV 2-2	Meta	G. Michel	125	MVV 1-2	Valle	a

a: Datos faltantes; D. Hartón: Dominico Hartón; G. Michel: Gros Michel.

Tomado de: Cuellar, Álvarez y Castaño, (2011)

Tabla No 5

**Tabla** Reacción de 19 genotipos *Musa* spp. frente a cinco aislamientos de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet de diferente virulencia y origen.

Genoma	Genotipos de plátano*										Genotipos de banano**								
	F21	F20	TP	MQ	DM	CBN	GY	HT	CB	AF	F23	SD	WC	GN	GMC	GM	GC	GEC	VC
	AAAB	AAAB	ABB	AAB	AAB	AAB	AAB	AAB	AAB	AAB	AAAB	AA	AAA	AAA	AAA	AAA	AAA	AAA	AAA
MQM2-1	R	I	R	I	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S
MCP4-2	R	R	S	I	I	S	I	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S
MCoP3-1	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S	I	R	S	S	I	S	S	S	S
MMP1-1	R	R	R	I	S	I	S	I	S	S	R	R	I	I	S	S	S	S	S
MAU1-3	R	R	R	R	R	R	I	I	I	S	R	R	I	I	S	S	S	R	S
Reacción campo	R <sup>1</sup>	I <sup>1</sup>								S <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>			S <sup>3</sup>	S <sup>3</sup>	S <sup>2</sup>	S <sup>4</sup>	S <sup>4</sup>	S <sup>4</sup>

**Reacción:** R: Resistente, I: Intermedio, S: Susceptible. **Aislamientos:** Virulencia en Dominico Hartón MQM2-1 (Baja virulencia), MCP4-2 y MCoP3-1 (Media virulencia), **MMP1-1 y MAU1-3** (Alta virulencia). **Genotipos de plátano\*:** F21: FHIA 21, F20: FHIA 20, TP: Topocho, MQ: Maqueño, DMH: D. Hartón, DM: Dominico, CBN: Cubano Negro, GY: Guayabo, HT: Hartón, CB: Cubano Blanco, AF: África. **Genotipos de banano\*\*:** F23: FHIA23, SD: Sedita, WC: Williams Cavendish GN: Guineo, GMC: Gross Michel Coco GM: Gross Michel, GC: Giant Cavendish, GEC: Gran Enano Cavendish y VC: Valery Cavendish.

**Reacción campo:** <sup>1</sup>: Torrado y Castaño, 2008; <sup>2</sup>: Guzmán y Castaño, 2009; <sup>3</sup>: Aguirre y Castaño, 2005; <sup>4</sup>: IDIAF, 2004.

Tomado de: Cuellar, Alvarez y Castaño (2011)

Los estudios realizados por Cuellar, Álvarez y Castaño (2011) para evaluar la resistencia de los genotipos de plátano y banano a distintos niveles de infección y origen de la Sigatoka negra (*M. fijiensis*) donde se utilizaran aislamientos provenientes de 10 departamentos de Colombia, se encontró que la enfermedad no se relacionó con su origen geográfico ni con el genotipo del cual se obtuvo el aislamiento. Se observó además que un mismo genotipo en la zona tiene diferencias relacionadas con su virulencia.

Los genotipos de plátano y banano con mejores comportamientos frente al desarrollo de la enfermedad fueron: Topocho, Maqueño, FHIA 20 y FHIA 21 (Plátano); Sedita, FHIA 23 (Banano), considerándose todos resistentes a la enfermedad Sigatoka ya que el proceso de infección es bajo y la enfermedad es menos severa.

En este estudio la enfermedad no se relacionó con su origen geográfico con el genotipo del cual se obtuvo, dada la agresividad de la enfermedad se pueden encontrar aislamientos diferentes tanto en la planta como en el lugar. Estos resultados contradicen lo reportado por Arango, et al, (2003) donde se encontró relación entre los aislamientos de Urabá y Chocó lo que nos permite entender la dinámica poblacional y pensar que probablemente el hongo de Urabá fue desplazado al Chocó ya sea con material infectado como semilla, hojas, vía acuática, etc. Cuellar, Alvares y Castaño (2011) además encontraron que el mismo genotipo en la zona tenía diferencia en cuanto a virulencia; los genotipos de plátano y banano se comportaron diferente frente a cinco aislamientos que tenían distinta virulencia y origen.

Lo anterior permite determinar tres niveles de reacción genotípica resistente, intermedia, y susceptible sobresaliendo los genotipos Topocho, Maqueño, FHIA 20 y 21 (plátano) y Sedita y FHIA 23 (Banano) por tener proceso lento y menos severo de la enfermedad por lo que se pueden considerar resistentes a la cepa del hongo *M. fijiensis*, es decir que pueden ser empleados en programas de mejoramiento.

En el cultivo de *Musa sp* además de las características de alta resistencia no se debe olvidar las cualidades comerciales del genotipo ya que esta es primordial al momento de seleccionar una variedad e inclusive más que la resistencia (Alvarez, 2010).

## 7. Fitomejoramiento en banano y plátano

El banano y el plátano son el resultado de la hibridación natural entre diploides silvestres de *Musa acuminata* (genoma A) y *Musa balbisiona* (genoma B).

La finalidad de la hibridación o cruce genético es lograr variación genética para que el investigador pueda seleccionar la combinación de genes más deseada. Los fitomejoradores de banano y plátano emplean con frecuencia cruzamientos de diploides resistentes con triploides (susceptible) originando tetraploides que son evaluados (Perea, 1998) con la finalidad de encontrar plantas resistentes a la enfermedad Sigatoka Negra.

Stover y Budenhagen, 1986 (citados por Perea, 1998) plantearon utilizar cruces entre diploides y posteriormente fueron tratados con colchicina y aumentaron el número de cromosomas para lograr tetraploides; para lograr más variabilidad se cruzan tetraploides con diploides y luego se seleccionan los triploides.

En la fundación Hondureña de Investigaciones Agrícola (FHIA) emplean tetraploides obtenidos por cruces entre triploides y diploides mejorados. El éxito en la FHIA se basa en el mejoramiento de nuevos diploides machos con características agronómicas deseadas unidaa a la resistencia de enfermedades (Perea, 1998).

El Instituto IITA 1987 en Nigeria con su programa de mejoramiento, inició la evaluación de la colección de plátano AAB teniendo en cuenta las características de fertilidad de la hembra, encontrando Obino I “Ewai” y Bobby Tannap” los que cruzaron con la variedad silvestre ‘calcuta 4’ (*Musa acuminata* ssp.burmannicoides) un diploide silvestre (AA) resistente a la Sigatoka negra (Perea, 1998).

La variedad silvestre de banano ‘Calcutta 4’ (*Musa acuminata* ssp.burmannicoides) es resistente y estable contra el ataque de l hongo *M. fijiensis* por lo que es escogido

como germoplasma clave para el mejoramiento de variedades comerciales (Rodriguez, 2011).

El mejoramiento convencional utiliza la estrategia 3X/2X y 4x/2x, en la primera pretende inventar híbridos tetraploides resistentes a las enfermedades y de buenas características agronómicas polinizando triploides sensibles con diploides masculinos fértiles y resistentes (Kodjo, Christophe y Escalant, 2004). Dos aspectos ocasionaron el desarrollo de la estrategia: 1. La evidencia de una fertilidad femenina residual en varios cultivares triploides. 2. El análisis de la relación de tetraploides en su descendencia. La estrategia 3x/2x intenta mejorar las variedades existentes.

La estrategia 4x/2x origina híbridos triploides que se producen por cruces entre diploide y tetraploide previamente adquiridos por duplicación con colchicina de antepasados diploides o híbridos diploide mejorados. Esta estrategia quiere crear nuevas variedades mejoradas parecidas a las ancestrales escogidas.

Estas estrategias han permitido crear los híbridos FHIA 21, CRBP-39 Bita3 que son resistentes a la sigatoka negra en los programas de mejoramiento (kodjo, Christophe y Escalant, 2004).

En general el banano y el plátano sembrados son triploides lo que brinda vigor a la planta además de esterilidad que limita el mejoramiento de los bananos por medio de cruzamiento kodjo, Christopher y Escalant ( 2004).



## **CAPITULO II**

### **LA BIOTECNOLOGÍA**

La biotecnología se concibe como una amplia área del conocimiento que combina de manera innovadora la biología y la ingeniería genética en procesos que aplicados sobre organismos vivos, tejidos, células o partes generan bienes, servicios o conocimientos que promoverán el bienestar de la comunidad (Hernández, 2010).

Otros la definen como un conjunto de actividades basadas en las ideas y los métodos de la bioquímica, biología molecular y celular, la genética, la inmunología y los tratamientos de datos (Municio, s/f). Todo lo anterior conlleva a producir cambios en los microorganismos, plantas, animales, tejidos, con el objeto de mejorar las características deseadas.

La biotecnología es una valiosa alternativa para generar y lograr plantas de banano y plátano con resistencia a la Sigatoka negra, porque los métodos se pueden trabajar con gran cantidad de individuos lo que aumenta la probabilidad de conseguir los caracteres deseados; hay Dominio del inóculo, el ambiente y plantas sanas. (Leiva, 2006).

Algunos beneficios que ofrece la biotecnología pueden ser: Aumentar la productividad de los cultivos, que beneficia a agricultores y consumidores (Agro-bio 2003).

Reduce y en algunos casos no se hace necesario el empleo de insecticidas, fungicida y herbicidas que contaminan el medio ambiente y causan trastornos en la salud.

Permite la creación de variedades de acuerdo a las condiciones ambientales y tipo de suelo.

Aumenta la garantía alimentaria al disminuir las fluctuaciones en los rendimientos.

Ofrece mayor valor nutritivo y proteínico tanto en plantas como en frutas.

Permite la elaboración de productos químicos y farmacéuticos de importancia en gran cantidad y a bajos costos (Agro-bio, 2003).

Contribuye al mejoramiento de la salud, al crear productos que ayudan a la digestión en el ser humano, que presentan dificultades gastrointestinales (FAO, 2002).

En los cultivos de banano y plátano la biotecnología se convierte en un aliado al brindar herramientas para obtención de clones resistentes a la enfermedad Sigatoka negra. Las técnicas de multiplicación o propagación en estos cultivos son muy estudiadas e investigadas por que se cuenta con diversos métodos apropiados para el cultivo, lo que convierte a la biotecnología junto con otras áreas como la ingeniería genética en puntos de partida en programas de mejoramiento de los procesos y desarrollo agrícolas y alimentarios en corto tiempo (Perea, 1998).

La utilización de prácticas culturales como alternativas para el control de la Sigatoka negra, ha tenido resultados en el control del hongo *M. fijiensis*; siendo utilizada como complemento del control químico, considerando que este último, presenta dificultades

dada la variabilidad genética del hongo; su resistencia, el alto costo de las aplicaciones, el interés por proteger el medio ambiente y la contaminación de la fruta hacen que se busquen otras alternativas menos dañinas con el medio ambiente y el ser humano.

### *1.1. Biotecnología tradicional*

Comprende el empleo de técnicas con progresos empíricos en selección, fermentación, domesticación, y cultivo de plantas (Orozco, 2006); cruzamiento genéticos (Leiva, 2006).

La autopolinización y polinización cruzada permitieron la selección de especies con alta productividad, mejor crecimiento, contenido nutricional, producción de semillas y frutas con mejor calidad. Las variedades vegetales al expresar su máximo potencial productivo se hace difícil seguir aumentando la productividad por técnicas tradicionales de mejoramiento (Calva y Pérez, 2005). Anotar en referencias

### *1.2. Biotecnología clásica*

Comienza desde que se origina la biología, la microbiología y la filosofía (Orozco, 2006). Es también llamada biotecnología del cultivo de tejidos y células. Las técnicas de cultivo de tejido utilizadas para multiplicar y conservar en grandes cantidades de plantas.

Entre las herramientas que emplean el cultivo de tejidos estas: micropropagación, embriogénesis somática, recuperar embriones, regeneración de plantas por medio de callo, cultivo de protoplastos, anteras y microsporas. Las técnicas anteriores

implementadas en cultivos de meristemos, nos permiten lograr plantas libres de virus en varias especies (Orozco, 2006).

Las estrategias de conservación *in vitro* complementan las técnicas tradicionales especialmente para conservar los fenotipos con dificultades fisiológicas (viabilidad de semilla); los métodos que posibilitan la variabilidad genética con el objeto de mejorar características de un material.

La fusión del protoplasma y citoplasma, se crean para solucionar problemas de incompatibilidad antes y después de la fertilización. La fusión somática, tiene como fin lograr híbridos inter específicos o recombinante con características maternas.

Otra técnica de grandes resultados frente a la enfermedad de la Sigatoka Negra, es el cultivo de anteras, el cual facilita el cultivo directo de microsporas lo que permite mejorar la selección en la ingeniería genética (Orozco, 2006).

Ante condiciones abióticas adversas, se emplea el método de selección de variantes con indicadores de presión de selección o explantes con antibióticos, herbicidas, salinidad y toxinas.

### 1.3. *Biotechnología Moderna*

La base de esta tecnología es reconocer la secuencia del ADN que contiene el gen de interés, moverlo del genoma, clonarla por vectores y transmitirla por procedimientos físicos o indirectos (biobalística) o vectores biológicos. Los principales instrumentos de esta biotecnología son los marcadores moleculares, selección asistida por marcadores

y transformaciones genéticas. La biotecnología moderna ha logrado eliminar los límites entre diferentes especies.

### *1.3.1. Marcadores moleculares*

Son instrumentos para conocer la diversidad genética, filogenia, selección asistida por marcadores (SAN). Orozco (2009) presenta la siguiente clasificación de marcadores:

*Marcadores de hibridación del ADN:* Los marcadores más empleados en plantas son: RFLP (restriction Fragment Length polymorphism, emplean sonda que hibrida fracciones de ADN que están fijas en una membrana, son muy reproducibles como dominantes y multialelicos, su desventaja es la falta de automatización, dispendiosos, requieren infraestructura). Los VNTR (variable Number of Tandem Repeats) tienen una secuencia muy repetida en el genoma.

*Marcadores basados en la amplificación del ADN:* Emplean PCR (reacción en cadena de la polimerasa), consiste en la extensión de secuencias de ADN, se usa iniciadores y polímeros para alargar la cadena. Los empleados son DNA-RAPD (Random amplified polymorphic) utiliza indicadores al azar no se necesita conocer el genoma.

*Variación genotípica:* Se refiere a las relaciones entre los alelos positivos y negativos de diferentes genes con el ambiente. Las modificaciones pueden ser cualitativas y cuantitativas.

*Genómica:* Simboliza la secuencia del ADN genómico de una especie para hacer posible diversos análisis. Se habla de genómica estructural, cuando se caracterizan las

bases nitrogenadas de los genomas principalmente funciones y genómica funcional, cuando se caracterizan proteínas codificadas por el genoma.

*Bioinformática*: Está relacionada con la utilización de la información para recopilar los datos de sistemas biológicos para organizar y procesar secuencias de ADN y RNA y proteínas (Orozco, 2006; Pagliano, 2004).

## **2. HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EMPLEADAS EN PLÁTANO Y BANANO PARA CONTROLAR LA SIGATOKA NEGRA (*Mycosphaerella fijiensis*).**

En relación con el género musáceas la biotecnología aporta alternativas que benefician tanto al plátano como el banano ya que les ha permitido conseguir tolerancia o resistencia a la enfermedad Sigatoka negra causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* de gran importancia económica (Perea, 1998).

El requerimiento de plántulas de plátano y banano libres de enfermedades y virus por medio de cultivo de meristemo dio resultados satisfactorios pero se sigue trabajando para mejorar las herramientas. Actualmente los estudios realizados tienden a ampliar la variabilidad genética lo cual permite identificar genes de resistencia a la enfermedad Sigatoka negra en la especie *Musa*.

### **2.2. Técnica de micropropagación**

La micropropagación se puede lograr por ápices vegetales como por ápices florales. Es una técnica muy utilizada en las *musa*. Varios laboratorios la utilizan para producir plantas de banano y plátano para exportación. La constitución de yemas se realiza con

cultivos de ápices en medio de cultivo que contiene 2-5mg. L<sup>-1</sup> de citoquininas (6-bencilaminopurina) o fracción de ellos. La multiplicación lograda puede ser 2 -10 propagulos (brotes) por mes, lo que produce una propagación de miles o millones de plantas al año (Leiva, 2006).

Esta técnica permite conservar la estabilidad genética, además de obtener miles de individuos partiendo de un solo genotipo (Rodríguez, 2009) en plantas de importancia económica en peligro de extinción. Mejora el empleo de germoplasmas sanos a nivel mundial, además de contribuir a mejorar genéticamente las plantas de plátano y banano. Esta técnica es utilizada con finalidades de propagación clonal, producción uniforme, las plantas con esta técnica son vigorosas, tienen ciclo productivo corto y se establecen más rápido.

## *2.2. Micro-propagación por organogénesis*

La organogénesis o diferenciación Celular es un proceso relacionado con la transformación de una célula a una planta u órgano (Calva y Pérez, 2005)

Los principios de la proliferación de brotes múltiples de *Musáceas* se basan en el desarrollo de la yema axial localizados en la base del rizoma, en la inserción de la hoja del pseudotallo (Angarita y Perea, sin fecha). Esta técnica es la más común en muchos países para multiplicar *Musa*. Es un método confiable para la multiplicación sin variación genética y con ausencia de microorganismos (Leiva, 2006).

### 2.3. Técnica de propagación *in vitro*

Es aquella en la cual se toma parte de una planta (explante) y se cultiva en condiciones asépticas en un medio químico bajo ambiente controlado (Rodríguez, 2009). Esta técnica comprende las etapas de iniciación o establecimiento, multiplicación (brotes), enraizamiento, endurecimiento; se ha empleado para la multiplicación de distintos cultivares de banano y plátano.

Según (Leiva, 2006), para 1980 con la utilización de ápices, fueron propagadas gran cantidad de plantas tanto de la especie *Musa*, como otros cultivares; los rendimientos de ganancia van del 20% en banano y el 70% en plátano. La propagación *in vitro* en banano y plátano brinda algunas ventajas: mayor tasa de multiplicación de material vegetativo sano, mayor disposición de material y disminución de espacio para multiplicar.

Los cultivos *in vitro* pueden almacenarse por largo tiempo con métodos como refrigeración y criopreservación; eliminando problemas como espacio físico, exceso de mano de obra, contaminación de los cultivos y erosión genética, (Calva y Pérez, 2005).

En el control de plagas y enfermedades mediante la técnica *in vitro* se considera que Dada la condición de alta esterilidad de las especies comestibles de *musa*, los programas de mejoramiento convencional no son muy aplicables; se debe pensar en crear híbridos resistentes a la sigatoka, mediante técnicas nuevas asociadas a cultivos *in vitro*; esta es una de las mejores alternativas desde el punto de vista de reducción de costos y de saneamiento ambiental. En la actualidad en el país se trabaja en la identificación y aislamiento de genes de resistencia a Sigatoka negra para ser



incrustados luego en plantas de banano y plátano comestibles. La FHIA ha desarrollado dos híbridos de gran producción y alta resistencia a sigatoka negra, como son el FHIA 21, 22 y el FHIA 20 (Coorpoica, s/f).

#### 2.4. Embriogénesis somática

La embriogénesis somática (ES), se refiere al desarrollo de una célula o conjunto de células hacia la formación de un embrión. Se diferencia de la embriogénesis cigótica en cuanto a que la célula que origina el embrión somático no se produce por fecundación sexual, sino por cualquier célula somática (Sandoval, 1998).

Las suspensiones celulares para regenerar plantas por embriogénesis somática, se realizaron con buenos resultados en plátano Cvs tipo Frech “Dominico”, lo anterior se logró utilizando como explante la inflorescencia masculina localizada en la chira. En plátano hartón no es posible por tener atrofiada la inflorescencia masculina, (Sandoval, 1998).

Grapin, et al, 1998, (citado en Sandoval, 1998) lograron aislar y cultivar *in vitro* inflorescencia femenina desectándolas antes que lograra la emergencia del racimo por el boquete floral, lo que originó un callo embrionario. Este método se emplea cuando se quiere propagar genéticamente las plantas para multiplicación masiva.

Un caso a resaltar es el presentado por Orellana y colaboradores (2010); Bermúdez y colaboradores (2004); Pineda y colaboradores (2002), quienes realizaron estudios sobre la respuesta en campo de plátano *Cavendish* enano (*Musa AAA*) obtenido mediante embriogénesis somática, reportando que las plantas que utilizan esta

biotecnología tenían pocas alteraciones morfológicas en el primer período productivo, al igual que los rendimientos eran mayores frente a plantas provenientes del cormo.

Las plantas de *musa spp* que son resistentes a la enfermedad Sigatoka Negra al ser propagadas por medio de embriogénesis somática conservan las características morfológicas de la planta de la cual se originó.

## 2.5. Cultivo de células y tejidos vegetales

Son un conjunto de técnicas empleadas para crear células, tejidos u órganos vegetales *in vitro*, en condiciones asépticas controladas y libres de microorganismos (Calva y Pérez, 2005; Sandoval, 1998) Se fundamentan en el principio de totipotencia que dice que cualquier célula vegetal contiene una copia íntegra del material genético de la planta que proviene sin importar su función o posición en ella, por lo que puede regenerar nueva planta.

El padre de la técnica de cultivos de células y tejidos vegetales Gottlieb Haberlandt, aisló células y tejidos de plantas y las colocó en solución nutritiva para su crecimiento y estudio. Siendo de esta forma el pionero del cultivo *in vitro* de células vegetales diferenciadas. Afirmó que era posible cultivar juntas células vegetativas libres y túbulos de polen con soluciones nutritivas suplementadas con extracto de ápices vegetales o fluidos de saco embrionario (Calva y Pérez, 2005).

La principal aplicación de la técnica de cultivo de células, tejidos y órganos vegetales; son en micro propagación y obtención de plantas libres de patógeno,

preservación de germoplasma, mejoramiento genético, biosíntesis de metabolitos, la genética, fisiología y bioquímica.

El cultivo de células y tejidos vegetales permite realizar estudios en poco tiempo, en condiciones controladas a diferencia de métodos tradicionales (Calva y Pérez, 2005). Cuando los cultivos *in vitro* se someten a estrés fisiológico, pueden expresar características de adaptación y resistencia, nunca manifestadas en condiciones normales o naturales. Esa también puede inducir por técnicas como mutación, ingeniería genética, fusión de protoplastos y transformación genética por incluir el DNA foráneo (Calva y Pérez, 2005; Sandoval, 1998).

## *2.6. Variación somaclonal*

Se refiere a las modificaciones genéticas o epigenéticas inducidas en los callos de las células vegetales cultivadas invitro. En algunos casos se observan cambios fenotípicos (Leiva, 2006) o mutaciones que ocurren en la progenie de las plantas que fueron regeneradas (Rodríguez, 2009). Las variaciones más comunes son la morfología de la inflorescencia, cambio del color del pseudotallo y diferencia en la altura de la planta. (Sandoval, 1998).

La variación somaclonal favorece la variabilidad genética en cultivos de importancia económica, lo cual se lograba tradicionalmente con hibridación. Con ella se puede lograr resistencia a enfermedades, herbicidas, tolerancia a condiciones ambientales adversas. La variación somaclonal se puede detectar y analizar en forma *in vitro* empleando marcadores morfológico, fisiológico, citogenético, bioquímicos y moleculares (Rodríguez, 2009).

## 2.7. Transformación genética

Es un método de cambio o alteraciones genéticas, es empleado para introducir características deseadas y ausentes en los bancos genéticos. La transformación genética es una excelente alternativa de la ingeniería genética en cultivo de plátano y banano donde se introducen genes de otras especies a este cultivo (Leiva, 2006; Rodríguez, 2009) para buscar resistencia al hongo *Mycosphaerella fijiensis*.

Las técnicas de cultivo de tejido: biología molecular, al igual que la transformación genética son herramientas valiosas para el mejoramiento y obtención de nuevas variedades resistentes y tolerantes al ataque de hongos y enfermedades como la sigatoka negra (Korneva et al, 2010). En las plantas de plátano y banano la transformación genética necesita suspensiones celulares de alta frecuencia de neoformación.

La transformación genética, emplea algunos protocolos entre los cuales están: Electroporación de protoplastos que provienen de suspensión celulares embrionarias, El bombardeo de fracciones de suspensiones celulares embrionarias, el co-cultivo de meristemas y el empleo de *Agrobacterium tumefaciens* con agregados embrionarios.

### 2.7.1. Transformación genética vía *Agrobacterium sp*

Se realiza co-cultivo a los explantes vegetales con la cepa de *A. tumefaciens* modificado o alterado en conformidad a las características que se quisieron introducir. Posterior al co- cultivo se realiza la regeneración de la planta partiendo de los tejidos transformados (Rodríguez, 2009).

## 2.8. Plantas transgénicas o genéticamente modificadas

Proviene de células vegetales a las que previamente se les introduce genes modificados o extraídos de otras especies, microorganismos, animales u otras especies diferentes y genéticamente incompatibles. Los genes foráneos pueden proporcionar mayor y más rápido crecimiento, rendimiento, mejores frutos y semillas, al igual que resistencia a plagas y enfermedades y, tolerancia al calor, frío, salinidad, etc. (Calva y Pérez, 2005).

Para la transformación de plantas los métodos más comunes son el uso de bacterias y biobalística o bombardeo de tejido vegetal con partículas cubiertas con DNA foráneos.

El método bacteriano usa *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes*, con el que se logran tumor celular o callo transgénico (agalla de cuello o agalla de corona); con biobalística se logra inducción de raíces aéreas pilosas. En los dos casos el tejido con el DNA foráneo puede rediferenciarse hasta generar plantas transgénicas con características genéticas, bioquímicas y morfológicas diferentes a la planta madre (Calva y Pérez, 2005).

Otra alternativa en la búsqueda de resistencia a las enfermedades ocasionadas por hongos, consiste en la introducción de sustancias externas en la planta para conferirle resistencia a las plagas o enfermedades, (Rodríguez, 2009). En el caso del plátano y banano se emplean genes que codifican para proteínas de defensas contra el hongo, como son péptidos antimicrobianos, quitinasas, gluconasas, magainina (Leiva, 2006; Kiggundu, 2011).

## 2.9. Amplificación de fragmentos de ADN por reacción en cadena de polimerasa (PCR)

El ADN genómico se toma de la zona del tejido infectado y se puede amplificar con iniciadores MF135 y R635 que caracterizan y distinguen el hongo *M. fijiensis*. Estudios realizados por Godoy, Polanco y Venegas (2007) emplearon esta metodología y el 75% de las muestras fueron positivas para este hongo. El anterior proceso biotecnológico, se puede igualmente comparar con el de Mendoza, et al, (2004), porque se obtuvo la identificación y caracterización del hongo bajo la aplicación de este método, (PCR).

## 2.10. Trabajos realizados para la búsqueda de herramientas biotecnológicas en plátano y banano.

Entre las investigaciones realizadas en este campo tenemos:

Mendoza, et al, (2004) en su artículo, construcción de bibliotecas de ADNc a partir de hojas de los cultivares de banano Calcutta 4 y Niyarma Yik inoculados con *Pseudocercospora fijiensis morelet*, construyeron una biblioteca de ADN complementario (ADNc), utilizando banano resistente (Calcutta 4) y otro susceptible (niyarma yik) a la Sigatoka negra los cuales fueron inoculados artificialmente con aislados de *Pseudocercospora fijiensis morelet* (CCIBP- PF1). Para la primera cadena de ADN se utilizaron 1ug de ARN total con oligonucleótido dT y probada por PCR con oligonucleótidos específicos para el gen del citocromo b. En la segunda cadena utilizaron marcaje homopolimérico con la combinación dcBamHI+dTNotI, lográndose 4 bibliotecas de ADNc a partir de las plantas iniciales.

Otra investigación de gran interés y aporte a la transformación de la resistencia de la planta del banano y el plátano contra la Sigatoka negra es el realizado por Salazar,

Patiño y Bustamante (2006). En su artículo sustratos foliares para el incremento de bacterias quitinolíticas y glucanolíticas en la filósfera de banano, buscaron establecer la habilidad biológica mediante la manipulación de agentes bióticos y abióticos, que actúan en la filósfera del banano para aumentar la epífitas naturales de las bacterias quitinolíticas y glucanolíticas, las cuales afectan el desarrollo del patógeno.

En este estudio se realizó la caracterización químico-microbiológica parcial de la filósfera de las plantas de plátano y banano de la región de Urabá, Antioquia (Colombia). Los sustratos estaban compuestos por quitina coloidal (Q.c) 4%, harina de cebada (Hc) 2.5 %, urea (U) 1% mezclada o sin mezclar (Salazar, et al, 2006); encontraron que los sustratos Hc y U obtuvieron aumentos superiores en las bacterias epífitas y recuentos mayores a 10.000 veces.

Otro trabajo realizado por Vásquez, (2010) y otros colaboradores, sobre los sustratos que se fundamentan en quitina y harina de cebada para el crecimiento de bacterias líticas originadas de filósfera de banano con mejores resultados para contrarrestar la sigatoka negra fueron SMB+ HC + U + Neofat y buffer fosfato + Q + HC + U + Neofat mezclado con aceite mineral ya que las bacterias quitinolítica y glucanolítica tienen capacidad para combatir la Sigatoka negra por que debilitan la pared celular del hongo.

Al igual que (Salazar, et al, 2006) en el laboratorio de investigación agrícola de Uganda (NARL) el grupo de investigación orientado por Kiggundu (2011), examinaron 19 líneas de banano GM reportando resultados benéficos en 5 líneas. Los científicos introdujeron genes de quitinasa la cual descomponen la quitina originando una

sustancia dura en la pared celular del hongo que irrumpe, evitando el ataque de la célula vegetal.

En la investigación de eventos morfogenéticos en la embriogénesis somática de los bananos CIEN-BTA-03 y su parental William, llevada a cabo por Ramírez y De García, (2010) se realizó un análisis morfogenético en la embriogénesis somática en los bananos CIEN-BTA-03 (resistente a la Sigatoka negra y amarilla) y el clon William (susceptible a la Sigatoka negra). En la investigación se utilizaron flores masculinas inmaduras (1.5 cm), escalpos obtenidos de vitro-plantas donde se indujo la formación de callos embriogénicos cultivando las manos florales extraídas de inflorescencias reducidas a 2,5 cm de largo, los cuales son sometidos a medios de cultivos para inducir el desarrollo de callos embriogénicos.

En el clon William el callo embriogénico (CE) se logró en las manos florales masculinas y maduras y en el clon CIEN-BTA-03 en los escalpos, se logró el callo embriogénico; las suspensiones celulares embriogénicas (SEs) en los dos clones fueron 100% viables y la eficiencia para producir plantas en William fue de 86,3 y de 92,5 para el clon CIEN-BTA-03.

Otros investigadores (Korneva, et al, 2010), obtuvieron suspensiones celulares embriogénicas de *Musa spp*, empleando diferentes explantes, inflorescencias masculinas y escalpos, como el trabajo realizado por Ramírez y García (2010); además adicionaron meristemos apicales de vitro-plantas (Morado AAA) y la punta apical de la inflorescencia masculina (William AAA), Barraganete (AAB), dominico (AAB), lográndose las suspensiones celulares embriogénicas de la variedad *Musa spp* (AAA,



AAB) con diferentes explantes, los meristemos apicales de vitro plantas y la punta de flor masculina como explantes se logró que regeneren plantas rápidas y efectivas. Con estos resultados se confirman los hallazgos de otras investigaciones donde el banano William y Morado es más embriogénico, seguido del plátano barraganete y por último el dominico, Calcuta 4 y orito (Corneva, et al, 2010); lo anterior verifica la eficiencia de William y Morado (banano), barraganete (plátano) en la utilización como material para producir células embriogénicas.

Bermúdez, et al. (2004) en su trabajo de transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* de suspensiones celulares embriogénicas de banano grande Naine (AAA) donde se buscaba obtener plantas transgénicas de banano resistente a la Sigatoka negra, utilizaron como material vegetal suspensiones celulares embriogénicas del cultivar grande Naine (AAA) obtenidas de embriones somáticos creados de flores masculinas inmaduras. El ADN (ácido de desoxirribonucleico) fue aislado en 33 líneas transformadas del cultivar grande Naine con 3 plásmido. La concentración de ADN se ajustó a  $200\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  para ser utilizado en el análisis de RCP (reacción en cadena de polimerasa) para detectar el posible gen bar incorporado. Los investigadores observaron que a medida que se realizaban los subcultivo muchas células tomaban el color pardo a negro. Donde se utilizó el herbicida BASTA, no hubo crecimiento de material vegetativo sin transformar; los embriones en estado globular a las 4 semanas de estar en el subcultivo fueron visibles en la superficie de las células embriogénicas. De las 110 líneas transformadas se escogieron 33 líneas para el análisis molecular de las cuales 21 (67%) fueron positivas para el análisis molecular

realizado, por lo que se considera la transformación genética de suspensiones celulares embriogénicas vía *agrobacterium tumefaciens* en banano grande Naine posible.

Al igual que Orellana (2010) y Pineda, et al. (2002) en sus artículos de transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens* de células embriogénicas en suspensión de plátano de dominico hartón (*Musa AAB simmods*) demostraron la eficiencia de *A. tumefaciens* en dominico hartón al usar células embriogénicas. En este estudio se tuvo en cuenta la expresión de gen B-glucuranidasa (Gus), además de tres factores: concentración de acetosiringona (As), concentración de *Agrobacterium* y tiempo de infección, demostrando la eficiencia de la transformación de células embriogénicas con *A. tumefaciens*.

García y Villarroel (2002) en su trabajo de transformación de plantas de plátano cv hartón (AAB) mediante electroporación de meristemo, buscaban establecer un protocolo adecuado para la transformación de plátano Cv hartón (AAB) para la incorporación de genes de resistencia a la Sigatoka negra. El plátano hartón fue cultivado *in vitro* en medios de multiplicación de banano con pH 5.8 con NaOH(1N) y esterilizado en autoclave por 20 minutos. Se aislaron meristemas de 0.2 -0.4Cm los cuales se sumergieron en solución de cisteína (100mg/L) por 1 hora posteriormente se colocaron en cama de oscuridad por 3 – 4 días. Para la electroporación se empleó el vector PCAMBIA3201 de 11450Kpb que contiene gen de resistencia al cloranfenicol para la selección de bacterias, gen de resistencia a fósfinotricina para la selección de plantas, el gen reportero Gus y el gen BAR como marcador de selección que contiene resistencia al herbicida glufosinato de amonio (BASTA). El buffer de electroporación fue ASPm con 10mM de HEPES (pH 7.6) se utilizaron 26 meristemas. Encontraron que la

oxidación se controla mejor con 2 o 3 lavadas, presentándose en la 3 lavada mayor control de la oxidación y 100% de regeneración al igual que 200v/cm (voltaje/cm) y 1000mF (microfaradio o capacitador electrolítico). Resultados similares fueron reportados por Muñoz en el (2001), donde se mejoró el meristemo en corto tiempo y aumentó la calidad de la planta.

Tiempos largos de incubación de los explantes en el amortiguador favorecen la difusión del ADN al interior de la Célula sin necesidad de realizar tratamiento enzimático. La incubación beneficia el paso del DNA por los espacios intercelulares y/o introducción a las paredes celulares permitiendo la ubicación cerca de la membrana plasmática, entrando al interior celular después de la descarga del pulso eléctrico.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El plátano y el banano son plantas que originan frutas con semillas improproductivas lo que permite que al implementar estudios e investigaciones se complique el mejoramiento de la especie haciendo necesario el empleo de herramientas biotecnológicas tradicionales combinadas con herramientas biotecnológicas modernas para obtener cultivos libres de plagas, enfermedades y con mejores características agronómicas de interés socioeconómico.

En la actualidad los estudios realizados bajo la tecnología del DNA recombinante, constituye una herramienta valiosa para mejorar el género *Musa*. El incrustar genes o moléculas, protoplastos y embriones somáticos, puede cambiar el genoma ocasionando resistencia.

La ingeniería genética es una alternativa importante para superar los límites que presentan los modelos clásicos de mejoramiento en el género *Musa* ya que brindan la posibilidad de introducir cambios genéticos específicos en un corto periodo de tiempo.

El requerimiento de plántulas de plátano y banano, libre de enfermedades y virus por medio del cultivo de meristemos ha dado resultados satisfactorios, pero se sigue trabajando para mejorar las técnicas o métodos (Perea, 1998). En relación al género *Musa* la tecnología aporta alternativas que benefician tanto al plátano como al banano ya que ha permitido conseguir tolerancia a la enfermedad Sigatoka negra lo cual es de gran importancia a nivel económico.

En la zona de Urabá, los controles que se realizan para contrarrestar y controlar la enfermedad Sigatoka negra en plátano y banano, se basa en el reconocimiento prematuro de los síntomas donde se le realiza prácticas culturales como: deshoje, despunte, cirugía (Medina y Díaz, 2010). Otras actividades realizadas son control de malezas, canales de drenajes, ciclos de nutrición, control químico terrestre y aéreo. En banano, se emplean plántulas mejoradas por meristemas.

En base a lo expuesto se recomienda:

Promover investigaciones tanto en campo como en laboratorio que permitan recopilar información para el control y erradicación del hongo *M. fijiensis* en los cultivos del plátano y el banano.

Determinar el ambiente y período óptimo de visibilidad del hongo *M. fijiensis*.

Realizar trabajos experimentales con nuevos métodos de evaluación para aumentar la eficacia del control de la Sigatoka negra.

Realizar investigaciones para conocer el efecto de la incorporación de material biológico y biotecnológico sobre el control de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* y los principales problemas fitosanitarios en los ciclos del cultivo.

Implementar el uso de los controles culturales y técnicos para contrarrestar el hongo *M. fijiensis* en el cultivo del plátano, banano ya que son productos de gran importancia socioeconómica para el país como para el mundo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

- Agro-bio. (2003). Biotecnología: Mitos y Realidades. Bogota-Colombia: publicaciones agro-bio tomada de <http://biblioteca2.ucn.edu.co/rdocumentos/cgeneral/Buscador/Busqueda.aspx?start1=121>
- Arango, I. Rodríguez, E. Saldarriaga, C.A. Arango, I. R.E. (2003) Diagnostico y caracterización molecular de aislamientos de *mycosphaerella sp* provenientes de plantaciones de banano y plátano de diferentes regiones de Colombia. *Revista Facultad Nacional agronomía* Medellín Vol. 56 (2), 1941 – 1950
- Álvarez, E. (2010). Identificación de genotipos de plátano y banano resistentes a la sigatoka negra (*Mycosphaerella Fijiensis Morelet*) en Colombia. Memorias XIX reunión internacional ACORBAT, Medellín- Colombia Pág. 162 – 172.
- Angarita A., Perea M. (s/f). Cultivo de tejidos en la agricultura. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Micropropagación de plátanos y bananos. (pp. 496-512). Bogotá: Colombia, tomado de <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo22.pdf>
- Augura, (2013). Banano y plátano producción y exportación en Colombia. *Coyuntura bananera Colombiana PDF*. 14, 16, 18. Tomado de <https://snt146.mail.live.com/mail/ViewOfficePreview.aspx?messageid=mgQf186v8i5BGS52w75aeKjq2&folderid=flinbox&attindex=0&cp=-1&attdepth=0&n=57285019>
- Augura, (2011). Banano, zona Urabá hectáreas de producción. *Coyuntura bananera PDF*. 14. Tomado de <http://www.augura.com.co/...ownload&qid=635&Itemid=95>
- Belalcázar S, Toro J, y Jaramillo R. (1991). El cultivo del plátano (*Musa AAB simmonds*) en el trópico. Instituto colombiano Agropecuario (ICA) subgerencia de investigación; Centro internacional de investigaciones para el desarrollo (CIID). Red internacional para el mejoramiento del banano y el plátano (INIBAP), Cali, Colombia. Pág. 376 de <http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/16556/16556.pdf>
- Belalcázar, S. (s/f). Cultivo del plátano en altas densidades, una nueva opción (CORPOICA, programa de banano y plátano. A.A 1069, Armenia, Colombia) recuperado el 15 de julio de 2013 de <http://www.ipni.net/ppiweb/ltamn.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/4460>

[48db9edf1f4a05256a5300598093/\\$FILE/Cultivo%20del%20pl%C3%A1tano%20en%20altas%20densidades.pdf](#)

- Bermúdez, I. , Gómez, Chong, B., Reyes, M., Machado, J., Portal, O., Ocaña, B., Alvarado, Y., Leiva, M., Acosta, M., Cruz, M., Roque, B., Swennen, R., Sagi, L., Hernández, L. (2004). Transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* de suspensiones celulares embriogénicas de banano cultivar Grande Naine (AAA). Artículo científico, *Biotecnología Vegetal* Vol. 4, (1) 31-35.
- Calva, C. G., Pérez, V. J. (2005). Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimento para el futuro. *Revista digital Universitaria*. Volumen 6 (11). 1-16 de [http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov\\_art104a.pdf](http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov_art104a.pdf)
- Carlier J. (2004). Estructura genética y dispersión de la población de *Mycosphaerella Fijiensis*. Revista internacional sobre bananos y plátanos. *Infomusa*, volumen 13 (2) 17-19 de [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/Infomusa\\_La\\_revista\\_internacional\\_sobre\\_bananos\\_y\\_pl%C3%A1tanos\\_1031.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/Infomusa_La_revista_internacional_sobre_bananos_y_pl%C3%A1tanos_1031.pdf)
- Cuellar Q. A., Álvarez E. y Castaño Z. J. (2011). Evaluación de resistencia de genotipos de plátano y banano a la Sigatoka negra (*Mycosphaerella Fijiensis* Morelet). *Revista facultad nacional de Agronomía Medellín*. Volumen 64.(1). 5853 – 5865 de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a11v64n01.pdf>
- Crane, j., Balerdi, C., F, Maguire I., (s/f). Cultivo de plátano en los jardines de Florida de <http://Cultivo%20del%20platano%20en%20los%20jardines%20de%20florida.pdf>
- FAO, (2002). Agricultura Mundial: hacia los años 2015/2030. Papel de la tecnología: Biotecnología problemas y perspectivas de <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s00.htm>
- García, E., Villarroel, C., (2002, Octubre-Noviembre). Transformación de plantas de plátano Cv harton (AAB) mediante electroporacion de meristemo. En Memorias Acorbat XV, reunión internacional, Cartagena de Indias, Colombia de <http://www.acorbatinternacional.org/descargas/memorias/memorias2002/Memorias>

- Godoy Lutz G., Polanco T, Venegas, J., (2007 Octubre ). Caracterización molecular de *Mycosphaerella fijiensis*. En SODIA, 3er congreso, Santo Domingo, República Dominicana de,  
[http://www.sodiaf.org.do/congreso/memorias/3\\_congreso/Resumenes\\_y\\_Programa\\_SODIAF2007.pdf](http://www.sodiaf.org.do/congreso/memorias/3_congreso/Resumenes_y_Programa_SODIAF2007.pdf)
- Hernández, F. H. (2010). Biotecnología. *Revista científica, FCV- Luz Volumen 20 (2)* 225-226, de <http://www.scielo.org.ve/pdf/rc/v20n3/art01.pdf>.
- ICA, (2013, junio). Por la sanidad agropecuaria y la inocuidad en la producción primaria. Ica comunica, de <http://www.ica.gov.co/Periodico-Virtual/Prensa/2013/El-Ministerio-de-Agricultura,-el-ICA-y-los-bananer.aspx>
- INFOAGRO (s/f). El cultivo del plátano (actualización) Recuperado de [http://www.infoagro.com/frutas/frutas\\_tropicales/platano.htm](http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/platano.htm)
- Kiggundu. (2011, Junio). Todo sobre biotecnología vegetal agrícola, bananos genéticamente modificados: resultados prometedores. de, Agro-bio de <http://www.agrobio.org/fend/index.php?op=yx>
- Kodjo T. Christophe J. y Escalant V. Jean (2004). Análisis de las estrategias de manejo convencional de *Musa*. *Revista internacional sobre bananos y plátanos. Infomusa, volumen 13 (2)*. 2 – 5, de [http://www.biodiversityinternational.org/uploads/tx\\_news/Infomusa\\_La\\_revista\\_internacional\\_sobre\\_bananos\\_y\\_pl%C3%A1tanos\\_1031.pdf](http://www.biodiversityinternational.org/uploads/tx_news/Infomusa_La_revista_internacional_sobre_bananos_y_pl%C3%A1tanos_1031.pdf)
- Korneva, S., Ortega N, Santos E. , Peralta E. ( 2010). Obtención de suspensiones celulares embriogénicas de *Musa Spp* utilizando diferentes explantes. En Acorbat, XIX reunión Internacional, Medellín, Colombia
- Leiva, M. (2006). Mejoramiento genético tradicional y empleo de técnicas biotecnológicas en la búsqueda de resistencia frente a los principales Patógenos fúngicos de *Musa spp*. *Revista biotecnología vegetal, Volumen. 6 ( 3)*. 131-147 de [http://revista.ibp.co.cu/component/docman/cat\\_view/90-vol-6-no-32006.html?start=5](http://revista.ibp.co.cu/component/docman/cat_view/90-vol-6-no-32006.html?start=5)



- Marín D.H., Romero R. A. Guzmán M., y Turner S. (2003). Black Sigatoka: *An increasing Threat to banana Cultivation. Volumen 87.(3).* 208 – 222.
- Medina C. G., Díaz G. J., (2010 noviembre). Modelo de manejo integrado de Sigatoka negra en plantaciones bananeras de Banacol en Colombia. En *Memorias Acorbat XIX reunión Internacional, Medellín, Colombia.*
- Mendoza, R. M. F., Jiménez, E., Maier, F., Schäfer, W., Idalmis Bermúdez, I., Padrón, Y, et al, (2004) Construcción de bibliotecas de ADNc a partir de hojas de los cultivares de banano Calcutta 4 y Niyarma Yik inoculados con *Pseudocercospora fijiensis* Morelet. *Revista Biotecnología vegetal volumen 4.(1).* 55 – 59 de [file:///C:/Users/familia/Downloads/BV0397-04-4\(1\)55-59.pdf](file:///C:/Users/familia/Downloads/BV0397-04-4(1)55-59.pdf)
- Merchán, V.M. (1998 mayo). Manejo de problemas fitosanitarios del cultivo del plátano en la zona central cafetera. Seminario Internacional sobre producción de plátano Armenia, Quindío.
- Moen, T.; Sandoval, J. A, Escalant J. V., y De Wale D. (2002). Evaluación de la progenie de un cruzamiento entre “Pisang Berlin” y *M. Acuminata* spp.*Burmannicoides* “Calcuta 4” para detectar la evidencia de la segregación con respecto a la resistencia a la Sigatoka Negra y Nematodos. *Revista Infomusa volumen 11 (2).* 20 – 22. Tomado de [www.bioversityinternacional.org/uploads/tx\\_ne](http://www.bioversityinternacional.org/uploads/tx_ne)
- Municio, A. M., (s/f) presente y futuro de la biotecnología, pp. 1-13. de <http://www.rac.es/ficheros/doc/00323.pdf>.
- Orellana, P., Kosky, R. G., García, A.L. , Chong, P. B., León, M., Reyes, M. et al (2010) Respuesta en campo de plantas de ‘Cavendish enano’ (Musa AAA) obtenidas mediante embriogénesis somática. *Revista Biotecnología vegetal volumen 10. (4)* 245 – 250 de [file:///C:/Users/familia/Downloads/BV0397-10-10\(4\)245-250\(1\).pdf](file:///C:/Users/familia/Downloads/BV0397-10-10(4)245-250(1).pdf)
- Orozco, L, A. (2006). Manejo y gestión de la biotecnología agrícola apropiada para pequeños productores. Estudio de caso Colombia. En Coordinadora Nacional REDBIOFAO, Bogotá, Colombia
- Pagliano, D. (2004). El papel de las nuevas tecnologías en la producción agropecuaria. En V. Echenique, C. Rubinstein, L. Mroginski. *Biotecnología y mejoramiento vegetal.*( p. 19). Argentina: INTA, tomado de <http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/biotec.htm>

- Peláez, M. J. E., Vásquez, D. L. E., Díaz, B. T.J., Castañeda S. Darío A. Rodríguez B. Esperanza, y Arango I. Rafael E. (2006). Use of a micro title plate dilution assay to measure activity of antifungal compounds against *Mycosphaerella Fijiensis*, MORELET. *Revista facultad Nacional de agronomía Medellín*. Volumen 59. (2). 3425 – 3433.
- Perea A. I., Rodríguez, E., Saldarriaga C. A., Arango R. E. (2003): Diagnóstico y caracterización molecular de aislamientos de *Mycosphaerella Sp.* Provenientes de plantaciones de banano y plátano de diferentes regiones de Colombia. *Revista Facultad nacional agronomía Medellín*. Vol. 56, (2).1941 – 1950 de <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24551/25186>
- Perea I, Rodríguez, E, Márquez E, Arango R. (2005) Diversidad genética de los Aislados Colombianos de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet basada en marcadores de microsatélites. *Revista Infomusa* , Vol. 14 (2).18 – 21 de [http://www.researchgate.net/publication/255704433\\_Diversidad\\_gentica\\_de\\_los\\_aislados\\_colombianos\\_de\\_Mycosphaerella\\_fijiensis\\_Morelet\\_basada\\_en\\_marcadores\\_de\\_microsatlites](http://www.researchgate.net/publication/255704433_Diversidad_gentica_de_los_aislados_colombianos_de_Mycosphaerella_fijiensis_Morelet_basada_en_marcadores_de_microsatlites)
- Perea D. M. (1998 mayo) Consideraciones Biotecnológicas para el mejoramiento en *musácea*. En facultad de ciencias, universidad nacional de Colombia. Seminario internacional sobre producción de plátano. Bogotá, Colombia de <http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/26376/26376.pdf>
- Pérez, V. L. (2006 octubre). Manejo alternativo de la Sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en banano y plátano. En Memorias ACRBAT. XVII reunión internacional, Sao pablo, Brasil.
- Pineda, C. Toro, N. Narváez, J. Orozco, M. Iaignelet, A. y Cardenas, H. (2002) Transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens* de células embriogénicas en suspensión de plátano 'Dominico hartón' (*Musa AAB Simmonds*). *Revista Infomusa*, Volumen.11 (2). 9 - 12 de [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/Infomusa\\_La\\_revista\\_internacional\\_sobre\\_bananos\\_y\\_pl%C3%A1tanos\\_950.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/Infomusa_La_revista_internacional_sobre_bananos_y_pl%C3%A1tanos_950.pdf)
- Ploetz Randy (2004). Enfermedades y plagas: Un análisis de su importancia y manejo. *Revista internacional sobre bananos y plátanos. Infomusa*, volumen 13 (2).11 - 16 de [http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx\\_news/Infomusa\\_La\\_revista\\_internacional\\_sobre\\_bananos\\_y\\_pl%C3%A1tanos\\_1031.pdf](http://www.bioversityinternational.org/uploads/tx_news/Infomusa_La_revista_internacional_sobre_bananos_y_pl%C3%A1tanos_1031.pdf)

- Ramírez, V. M., De García, E. (2010 Noviembre). Evento morfogenético en la Embriogénesis somática de los bananos CIEN – BTA – 03 y su parental *Williams*. En Memorias Acorbat. XIX reunión Internacional, Medellín – Colombia.
- Rodríguez. C. H. A. (2011). Análisis de secuencia expresadas diferencialmente de la variedad "calcutta 4" (*Musa A A*) en respuesta a *Mycosphaerella Fijiensis Morelet* mediante micro arreglos. En Universidad Nacional de Medellín, Colombia de <http://www.bdigital.unal.edu.co/5916/1/1110443747.2012.pdf>
- Rodríguez, G. P. A., Cayon S. G., (2010 Noviembre). Efecto de *Mycosphaerella Fijiensis* sobre la filosfera de la hoja de banano. Memorias Acorbat. XIX reunión Internacional, Medellín – Colombia.
- Rodríguez, B. P., (2009). Cultivo de tejidos. En Modulo Universidad Nacional Abierta y a distancia UNAD. Bogotá, Colombia de, [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/203024/Contenido\\_para\\_descarga\\_PDF.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/203024/Contenido_para_descarga_PDF.pdf)
- Salazar, L. Patiño, L y Bustamante, E. (2006). Sustratos foliares para el incremento de bacterias quitinolíticas y glucanolíticas en la filosfera de banano. Transgénicos al día. En MINIAGRICULTURA de [http://biblioteca2.ucn.edu.co/rdocumentos/cgeneral/Documentos/MINAGRICULTURA\\_Transgenicos\\_al\\_dia.pdf](http://biblioteca2.ucn.edu.co/rdocumentos/cgeneral/Documentos/MINAGRICULTURA_Transgenicos_al_dia.pdf)
- Sandoval, J. A. (1998 mayo). Biotecnología y cultivo de tejidos. Aplicaciones en el cultivo del plátano (*Musa AAB*). En Memorias Seminario Internacional sobre producción de plátano. Armenia, Colombia.
- Vásquez, D. L. E., Patiño H. L. F., Aristizabal, G. M. I., Castañeda S. D. A., Mira C. J. J., Bustamante R. E., (2010 Noviembre). Sustratos foliares para bacterias líticas e inductores de resistencia en el control de Sigatoka Negra. En Memorias Acorbat. XIX reunión Internacional, Medellín – Colombia.